

Thesis

WÜRZBURG

1967

Aus der Medizinischen Universitäts-Poli-Klinik Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. H. F R A N K E

Der Einfluss des p_H - Wertes des Urins auf
die Vanillinmandelsäure - Konzentration
des Harnes

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Klaus Höfer
aus Coburg

Würzburg 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153518_0103

Aus der Medizinischen Universitäts-Poli-Klinik Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. H. F R A N K E

Der Einfluss des p_H - Wertes des Urins auf
die Vanillinmandelsäure - Konzentration
des Harnes

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Klaus Höfer
aus Coburg

Würzburg 1967

Referent: Professor Dr.P.Polzien

Korreferent: Professor Dr.H.Franke

Tag der Promotion: 21. 7. 67

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

" Was Du ererbt von Deinen Vätern,
erwirb es, um es zu besitzen. "

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
A.	Einleitung	
	Physiologie und Biochemie der Sympathicus-Hormone	
	Geschichte und Entwicklung	1
	Vorkommen und Zusammensetzung	4
	Die Biosynthese	6
	Verbleib und Abbau	7
	Fragestellung	17
B.	Methoden zur Bestimmung der Katecholamine	19
	Eigene Methodik mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie	
	Versuchs-Durchführung	21
C.	Ergebnisse	28
D.	Diskussion	35
E.	Zusammenfassung	40
F.	Literatur-Verzeichnis	I- VI

Physiologie und Biochemie der Sympathicus-Hormone

=====

Geschichte und Entwicklung

Adrenalin, das in der amerikanischen Literatur als Epinephrin bezeichnet wird, ist das erste in reiner Form isolierte Hormon des Nebennierenmarkes. Schon 1856 fand VULPIAN in wässrigen Extrakten anderer Drüsen eine Substanz, die mit Jod, Alkali und anderen verschiedenen Reagentien bei Sonnenbestrahlung eine karminrote Farbe ergaben. Mit Säure konnte man diese Reaktion verhindern, jedoch wurde hierbei die Originalsubstanz nicht zerstört. VULPIAN vermutete, dass diese Substanz ins Blut abgegeben werde und erhielt dann auch Gewissheit über die Anwesenheit der Substanz in den Nebennieren nach dem Tod. Heute wissen wir, dass es sich um Adrenalin gehandelt hat; jedoch die Bedeutung dieser Arbeit wurde nicht eher erkannt, als bis erst 40 Jahre später die pharmakologischen Eigenschaften dieses Extraktes entdeckt wurden.

Es waren SCHAEFER und OLIVER (1895), an anderer Stelle SZYMONOWICZ und CYBULSKI (1896), die das Adrenalin an Hand seiner blutdrucksteigernden Wirkung entdeckt haben; nur wenig später durch FUERTH, TAKAMINE und ALDRICH isoliert, konnte es FRIEDMANN in seiner chemischen Struktur aufklären.

Ein dem Adrenalin sehr nahe verwandter zweiter Wirkstoff, das Noradrenalin oder auch Arterenol genannt, ist sehr viel später in Drüsen gefunden worden.

Beide Hormone kommen zusammen im Nebennierenmark vor und zwar in verhältnismässig hoher Konzentration (einige mg/g Nebennierenmark). Sie gehören als wirksame Stoffe des Nebennierenmarkes zu den Phenyl-Aethyl-Amin-Derivaten, die im allgemeinen starke pharmakologische Wirkungen besitzen.

In einer grundlegenden Arbeit zeigten BARGER und DALE (1910), dass es eine Reihe von Aminen gibt, die in ihrer Wirkung dem Adrenalin stark gleichen. Man prägte für sie den Namen "sympathomimetische" Amine; das sind Amine, die eine ähnliche Wirkung haben, wie sie durch eine Reizung des Sympathikus erzielt werden kann. Genauer werden sie Brenz-katechin-amine, Katechin-amine oder nach dem Englischen Katecholamine genannt. Sie haben fast dieselben Wirkungen, unterscheiden sich aber doch in mancher Hinsicht, worauf wir später noch zu sprechen kommen.

Nun veranlasste aber ELLIOT (1904) die Ähnlichkeit der pharmakologischen Wirkung von Adrenalin mit den Wirkungen einer Erregung des sympathischen Nervensystems, anzunehmen, dass an den sympathischen Nervenendigungen bei der Erregung Adrenalin freigesetzt wird.

Dass es sich also um einen Erregerstoff handeln muss, bewies LOEWI (1921) mit seinen Versuchen an isolierten Froschherzen; und zwar, dass es sich nicht um einen direkten Uebergang des physiologischen Nervenimpulses auf die Rezeptorzelle handelt, sondern um die humurale Uebertragung durch den Nachweis des Vagusstoffes Azetylcholin. In genau derselben Richtung verlaufen die Versuche von CANNON und URIDIL (1921), die zeigten konnten, dass adrenalin-ähnliche Substanzen freigesetzt werden, wenn man die sympathischen Nervenfasern der Leber reizt. Nun wurde aber gerade von CANNON darauf hingewiesen, dass bei der Reizung des sympathischen Nervensystems ein ausserordentlich reichhaltiges Wirkungsspektrum von Adrenalin zutage tritt und ein von Adrenalin wirkungsmässig abweichender Stoff entsteht (CANNON und ROSENBLUETH 1933). Sie fanden also Unterschiede zwischen der Wirkung von Adrenalin und der sympathischen Nervenreizung, und stellten die Theorie des Sympathin E(excitatory) und I(inhibitory) auf. Diese Tatsache liess BACQ und GREER (1938) das Noradrenalin als wichtigen Teilhaber an der sympathischen Erregungsübertragung finden. Seine Identität mit dem Ueberträgerstoff der sympathischen Faserenden wurde erst in den nächsten Jahren durch v. EULER und P. HOLTZ sichergestellt. Es war v. EULER (1946) gelungen, aus sympathischen Nervenextrakten und sympathischen innervierten

Organen das Noradrenalin zu isolieren und es mit dem vorhandenen sympathico-mimetischen Stoff zu identifizieren. Seine Arbeiten wurden später von anderen Untersuchern bestätigt.

(HOLZ KRONEBERG SCHUEMANN 1950)

Später fand v. EULER zusammen mit HELLNER (1951) eine dritte Substanz neben Adrenalin und Noradrenalin, das Hydroxytyramin (HOT) auch Dopamin genannt, das, aus normalem Urin isoliert, eine Rolle bei der sympathischen Nervenübertragung spielt. CARLSSON (1957) bestätigte einen solchen Fund im Hirn der Ratte.

Vorkommen und Zusammensetzung

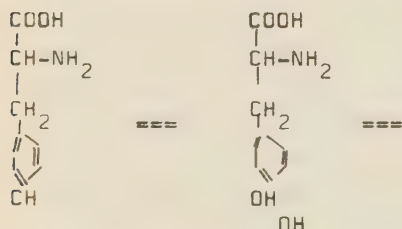
Heute ist man sich darüber im klaren, dass Noradrenalin und Adrenalin in ganz bestimmtem Verhältnis im Nebennierenmark vorkommt; weiterhin überall da, wo sympathisches Nervengewebe auch in Organen angetroffen wird, also in verstreuten Anhäufungen von chromaffinem Gewebe oder aber in aberriertem Nebennierengewebe. Noradrenalin vor allem im sympathischen Grenzstrang, in Ganglien und postganglionären Fasern, in den Splanchnici und sensorischen Aesten zur Haut. (v.EULER 1951); im Gehirn nur in den zentralen Anteilen des sympathischen Systems, im Hypothalamus und in Kerngebieten des Mesenzephalons.

Bei den meisten Säugetieren macht Noradrenalin 25-35% der Gesamtmenge der Katecholamine aus, beim Menschen jedoch erheblich viel weniger. Im allgemeinen rechnet man mit einem Verhältnis von Adrenalin: Noradrenalin wie 90:10 oder 80:20. Im sympathischen Nervensystem ist das Verhältnis ebenso. Ein anderes Verhältnis ergibt sich bei der Ausschüttung der Hormone aus dem Nebennierenmark und zwar 50-70% Noradrenalin und 30-50% Adrenalin. Sogar mit dem Alter ist eine Änderung des Mischungsverhältnisses bemerkbar. Vom Säugling an steigert sich über den Jugendlichen bis zum Erwachsenen der Adrenalinanteil von 0 auf 10% über 13% bis zu 20%. (REIN-SCHNEIDER 1955). Der Adrenalinanteil beträgt beim Säugling 0-11%, beim Kleinkind 13%, erst beim Kind und Jugendlichen erreicht er die 20% des Erwachsenen. (ZEISEL, KUSCHKE 1959). Im ruhenden Organismus erfolgt die Ausschüttung in ganz geringem Mass. Im Stress, bei Situationen, die an den Körper ausserordentliche Anforderungen stellen - Erregung, Operation oder Trauma -, kommt es zu starken Adrenalinausschüttungen ins Blut, weshalb das Hormon auch als Katastrophen-Hormon bezeichnet wird. Man spricht auch von der sogenannten Notfallsfunktion, die dem Adrenalin zukommt, (CANNON 1928). Ebenso beschreibt CANNON (1932) eine Reaktion, die mit

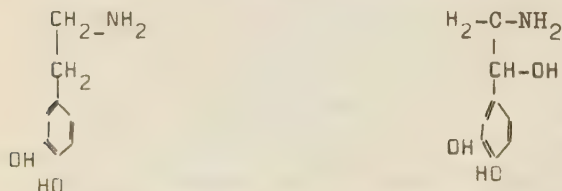
einer excessiven Adrenalin-Ausscheidung einhergeht und nennt sie " fight-fight" Reaktion.

Biosynthese

Im allgemeinen wird angenommen, dass Adrenalin durch Methylierung von Noradrenalin im Nebennierenmark gebildet wird (BULBRIN und BURN 1949). Nach den gegenwärtigen Verhältnissen können wir folgenden Weg für die Biosynthese des Adrenalins aus dem Tyrosin als den nach BLASCHKO (1959) wahrscheinlichsten annehmen. Die Biosynthese nimmt ihren Ausgang vom Tyrosin. Tyrosin wird zunächst oxidiert zum Dihydroxyphenylalanin.

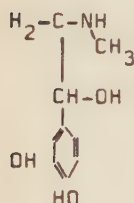


Dihydroxyphenylalanin wird dann decarboxyliert



zum Hydroxytyramin=Dopamin=HDT und in der

Seitenkette oxydiert. Das entstandene Nor-adrenalin wird durch aktives Methinonin methyliert:



A D R E N A L I N

Seine synthetische Darstellung gelang Stolz und unabhängig von ihm DAKIN (1905).

Verbleib und Abbau

Bei oraler Verabreichung wird Adrenalin praktisch vollständig zerstört. Erst nach Dosen von 4 bis 6 mg tritt eine Wirkung auf den Blutdruck ein. Injiziert man es, verzögert es durch Gefäßkontraktion seine eigene Resorption. Es wird dementsprechend nur sehr langsam und häufig auch sehr unregelmässig aufgenommen. So ist durch diese Methode keine sichere Dosierung dieses stark wirk-samen Pharmakons möglich. Die Elimination von Adrenalin erfolgt sehr rasch, aber man hat noch keine Klarheit über den Vorgang

dieses Mechanismus gewonnen. Die Regulation des endokrinen Systems beruht auf der Möglichkeit, die Sekretionsleistung je nach Erfordernis zu steigern oder zu mindern. Zum Funktionieren des Regulationsmechanismus gehört, dass die nicht mehr benötigten Hormone unwirksam gemacht werden, da es sonst zu einer Anhäufung hochwirksamer Stoffe im Organismus käme.

Es war lange Zeit nicht geklärt, ob die Entfaltung einer Hormonwirkung mit einer chemischen Veränderung am Hormon selbst einhergeht, die zu einer Inaktivierung führt (ULLMANN 1957). Die Hormone werden - unabhängig von einem fraglichen spezifischen Verbrauch - in der Leber, vielleicht auch anderen Organen, Milz oder Niere inaktiviert. Inaktivierung heisst chemische Veränderung, die je nach der chemischen Konstitution des Hormons reduktiver, oxydativer oder proteolytischer Natur sind. Die Inaktivierung erfolgt einmal durch Ablagerung der einzelnen Bausteine in Geweben oder durch fermentativen Abbau. Der quantitativ entscheidende Schritt geschieht hier durch die in den Zellen enthaltene Brenzkatechin - O - methyltransferase, ein Ferment, das die OH-Gruppe, die in Stellung 3 am Ring sitzt, methyliert, (KUSCHINSKY, LUELLMANN 1946). Die inaktivierten Hormone

werden durch Konjugation mit Glukuronsäure oder Schwefelsäure, vielleicht auch mit anderen Partnern, wasserlöslich gemacht und ausgeschieden (ULLMANN 1957).

Ein spezifischer Abbaumechanismus wie es für Azetylcholin die Cholinesterase darstellt, liess sich für Noradrenalin und Adrenalin nicht feststellen. (MØLLER 1961).

Zunächst ist eine Wirkungsänderung von der gegenwärtigen Wirkstoffkonzentration am Wirkungsort abhängig. Ein Absinken dieser Wirkstoffkonzentration kann nun zurückzuführen sein auf:

ein einfaches Abdiffundieren des Wirkstoffes in die Extrazellulärflüssigkeit und weiteres Ausscheiden durch die Niere; in unserem Fall wird ein kleiner Teil zur Hälfte in freier Form und zur anderen Hälfte gekoppelt an Schwefel- und Glukuronsäure im Harn ausgeschieden. (Nach intravenöser Injektion von etwa 2 mg Adrenalin beim Menschen findet man 0,5 - 1,5% des Adrenalins im Harn wieder; (EULER und MITARBEITER).

Veränderungen des Wirkstoffes, wobei jedoch der Mechanismus dieser Vorgänge nur teilweise bekannt ist. Man spricht von Metaboliten, in die der jeweilige Wirkstoff am Ort der Wirkung oder aber in entfernteren Geweben oder Organen aufgesplittert wird, wirkungsarme oder wirkungs-

lose Umwandlungsprodukte, die nur noch ausgeschieden werden können. Ein weiterer Beweis dieser Metabolisierung der Katecholamine bringt uns die oben angeführte Tatsache, dass nach intravenösen Injektionen einzelner Katecholamine beim Menschen nur ein ganz geringer Teil unverändert ausgeschieden wird.

Im Hinblick auf die Schnelligkeit aber, mit der das Adrenalin an den adrenergischen Rezeptoren eliminiert wird, ist eine Kopplung dieser beiden Wege: einfache Abdiffusion und Metabolismus denkbar!

Die Katecholamine sind in den Geweben in physiologisch inaktiver Form vorhanden. Wenn sie einmal freigesetzt sind, kann die Tätigkeit dieser Neuro-Hormone durch enzymatische Zerstörung oder durch das Abziehen der aktiven Moleküle zu einem inaktiven Gebiet, also physikalisches Stoppen der Tätigkeit, beendet werden. Das Letztere könnte erreicht werden, indem man einen spezifischen Teil in einem inaktiven Gebiet bindet, ähnlich der intrazellulären Lokalisation des Potassium-Ions. Man erkannte, dass sowohl enzymatische wie auch physikalische Inaktivierung die Tätigkeit des befreiten adrenergischen Ueberträgers beenden kann, (KUELLE 1959).

Als 1944/47 HOLZ und Mitarbeiter das " Ursympathin" nachweisen konnten, war ein Anfang für das Studium des Abbaues der Brenzkatechinamine gemacht. Seit zwanzig Jahren war man der Auffassung, dass die Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin im Organismus hauptsächlich durch die oxydative Desaminierung mit Hilfe der Monoamino-oxydase (MAO) umgewandelt werden; eine wesentliche, vermutlich sogar die grösste Menge sollte durch dieses Enzym inaktiviert werden, das aber auch eine Reihe anderer Amine zu spalten vermag, (BLASCHKO und Mitarbeiter 1937, MOLLER, AXELROD 1957).

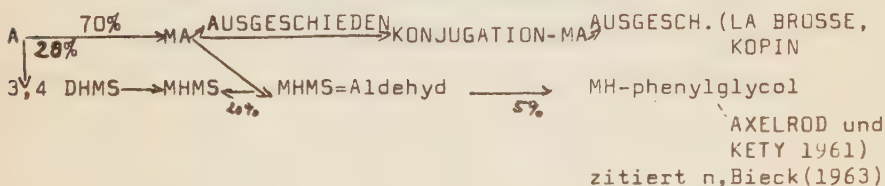
Während nur ein geringer Teil, 5% der eingeführten Katecholamine, im Urin ausgeschieden werden, macht die Ausscheidung der Metaboliten bis zu 40% aus, (EULER, LUFT 1951). Die wichtige Rolle der Leber für den Metabolismus der zirkulierenden Hormone wurde durch die 80 prozentige Inaktivierung des in die vena portae eingeführten Adrenalins gezeigt. Es wurde angenommen, dass entweder Konjugation, (RICHTER 1940), Desaminierung durch Monoaminoxidase, (BLASCHKO und Mitarbeiter 1958) oder Bildung von Adenochrom die hauptsächlichsten Wege zur Inaktivierung der Katecholamine wären. Die Rollen der Konjugation, Desaminierung und Oxydation wurden von SCHAYER (1952) untersucht, der radioaktiv gezeichnetes Adrenalin verwandte. Er kennzeich-

nete das Adrenalin einmal mit C^{14} am β -Kohlenstoff-Atom und zum anderen an der N-Methyl-Gruppe. Seine Resultate ergaben, dass Oxydation zu Adenochrom und Konjugation nur kleinere Rollen im Metabolismus des Adrenalins spielten. Hiermit bewies er die führende Rolle der Monoaminoxidase bei der Metabolisierung des Adrenalins oder seiner Amin-Metaboliten, (BLASCHKO 1952).

Heute ist sicher, dass Adrenalin auch durch andere enzymatische Oxydationsprozesse inaktiviert werden kann: Der prinzipielle Weg der Adrenalin-metaboliten im Menschen verläuft über die O-Methylierung zum Metanephrin. Das hierfür verantwortliche Enzym, die Katechol-Methyl-Transferase wurde 1957 von AXELROD entdeckt.

ARMSTRONG und Mitarbeiter (1957) erklärten 3-Methoxy-4-Hydroxy-Mandelic-Acid, die in unserer Nomenklatur Vanillin-Mandel-Säure genannt wird, zum hauptsächlichsten Ausscheidungsprodukt des Adrenalins, Noradrenalins und der 3-4-Dihydroxy-Mandelsäure. Die Katecholamine waren als Substrate der Monoamin-Oxydase bekannt, (BLASCHKO und Mitarbeiter 1937) und dieses Enzym spielt auch eine Hauptrolle bei der Inaktivierung der Katecholamine (BLASCHKO 1952). Die Folge der Desaminierung und der O-Methylierung wurde deshalb als Bildungsweg für die Vanillin-Mandel-Säure (MHMS) angesehen.

AXELROD und seine Mitarbeiter zeigten aber, dass O-Methylierung der Desaminierung vorausgehen kann, da Normetanephrin und Metanephrin, die O-Methylverbindungen der Katecholamine, im Urin und in den Geweben gefunden werden konnten. Sie zeigten ausserdem, dass das notwendige Ueberträgerenzym der Methylgruppe über den ganzen Körper weit verteilt ist. Es wurde also gefolgert, dass die O-Methylierung der Hauptweg der metabolischen Inaktivierung des Adrenalins ist, das der Ratte, (AXELROD und Mitarbeiter 1958), oder dem Menschen, (LA BROSSE und Mitarbeiter 1958), zugeführt worden war. Es konnte weiterhin dargelegt werden, dass etwa $\frac{2}{3}$ der zugeführten Adrenalindosis erst O-methyliert und etwa $\frac{1}{4}$ erst desaminiert wurden sowohl beim Menschen, wie auch bei der Ratte, (KOPIN 1960), (KOPIN 1961). Jetzt wird allgemein für richtig gehalten, dass die O-Methylierung der Hauptweg für die Metabolische Inaktivierung des zirkulierenden Adrenalins ist, während die Konjugation der freien unveränderten Katechinamine mit Glukuron- und Schwefelsäure nur einen Bruchteil an Inaktivierung der freigesetzten Amine ausmacht.

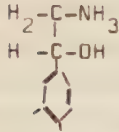


Im Ganzen liegen heute eine Reihe von Untersuchungsergebnissen vor über die Elimination von Adrenalin, die nun die folgenden sechs Ausscheidungsmöglichkeiten des Adrenalins aufzeichnen:

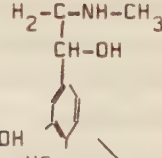
1. oxydative Methylierung mit anschließender Kopplung der Methyläther an Glukuronsäure,
2. oxydative Desaminierung zu Derivaten der Mandelsäure,
3. Konjugation an Schwefel- und Glukuronsäure,
4. vertauschbare Abbauwege 1. und 2.
5. unverändert
6. N-Demethylierung des Adrenalins mit anschließender 3-O-Methylierung und Ausscheidung als Glukuronid.

Wichtig für diese Betrachtungen hier ist der Seitenkettenabbau, der zur Bildung der aus dem Urin gefundenen 3-Metoxy-4-Hydroxy-Mandelsäure führt. Es handelt sich, vom Noradrenalin und Adrenalin ausgehend, um eine Methylierung der metaständigen Hydroxylgruppe, und um eine oxydative Desaminierung der Seitenkette, hier im Rahmen der wichtigsten Abbauwege der Hormone dargestellt:

Noradrenalin



Adrenalin

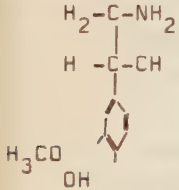


Durch oxydative
Desaminierung
entsteht

Durch 3-O-Methylierung

zum

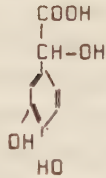
3-Methyl-Noradrenalin



Durch Konjugation zum

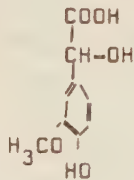
Glukuronid des 3-Methyl-Noradrenalins

Dihydroxymandelsäure



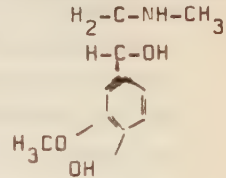
Durch 3-O-Methylierung
entsteht

VMS



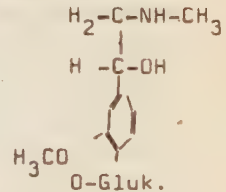
Durch 3-O-Methylierung

Adrenalin (Metadrenalin)



Durch Konjugation zum

Glukuronid des 3-Methyl-
adrenalins



KRAUPP (1960)

Dieser Abbauweg bis zur MHMS wurde schon durch Beobachtungen von ARMSTRON und MC. MILLAN (1957) erkannt, indem sie nämlich bei Phäochromocytom - Patienten postoperativ eine Normalisierung der vorausgegangenen hohen MHMS-Ausscheidung fanden. Für die Gültigkeit dieses Abbauweges sprach auch die Verwandlung radioaktiv markierten Adrenalins, das i. v. gespritzt schon nach wenigen Minuten zum grössten Teil als Metanephrin vorlag, (AXELROD und Mitarbeiter 1959).

Stoffe wie Iproniazid und Pyrogallol, die die Enzyme, welche für den Metabolismus der Katecholamine zuständig sind, hemmen, sind wichtig für die Verteilung der Rollen, die von diesen Enzymen bei der Inaktivierung und der Metabolisierung dieser Neurohormone gespielt werden. Das Hydrazinderivat Iproniazid wurde als typischer und wirkungsvoller MAO-Inhibitor herausgefunden, (ZELLER und Mitarbeiter 1952), wobei die Zufuhr dieser Droge ein Ansteigen des Noradrenalinpiegels in den Geweben zur Folge hatte, (SHORE und Mitarbeiter 1957). Dieses Beispiel bewies, dass MAO bei der Zerstörung der Katecholamine eine Rolle spielt.

Einen anderen wichtigen Enzym-Inhibitor stellt Pyrogallol dar; und zwar hemmt Pyrogallol die Katechol-O-Methyltransferase; jedoch kommt diesem oder ähnlichen Stoffen keine klinische Bedeutung zu, da sie für den Menschen unverträglich sind. (SHORE und Mitarbeiter 1957)

Fragestellung:

In dieser Arbeit war nun die Aufgabe gestellt, festzustellen, inwieweit sich die Verweildauer des Harnes, (respektive Vanillinmandelsäure = VMS oder MHMS), in der menschlichen Blase bei saurem und basischem Milieu auf die Bildung der MHMS auswirkt.

Es erschien also notwendig, den Urin im Organismus anzusäuern, da die Katecholamine im basischen Milieu erwartungsgemäss zerfallen. Um individuelle Schwankungen zu eliminieren, war der Einzelversuch aussichtsreicher. Als objektive Kontrolle über die Konstanz der energetischen Untersuchungsbedingungen dienten die Messungen von Temperatur und Puls unter Ruhebedingungen im Liegen über eine bestimmte Zeit, in diesem Fall über 4 Stunden von 8 - 12 Uhr vormittags, wobei die kurze Zeit angemessen erschien, weil die energetischen Bedingungen über eine längere Zeitspanne nicht konstant zu halten sind.

So ergaben sich Versuche, wie sie auf diesem Gebiet in der Literatur überhaupt noch nicht durchgeführt wurden. Zunächst wurde ein Modellversuch mit Schweineblasen, die wir vom Schlachthof bezogen, durchgeführt. Es wurde deren Säuregehalt geprüft und der Inhalt entweder leicht angesäuert (pH 5) oder aber knapp basisch gemacht (pH 7,5 bis pH 8).

So hatten wir zwei Gruppen von Blasen, eine

mit saurem und eine mit basischem Urin. Diese Blasen wurden in ein Wasserbad von 37° C gebracht und gleich zu Beginn, dann nach 2 Stunden und nach 4 Stunden dem Urin Doppelproben zur photometrischen Messung auf MHMS entnommen, woraufhin der jeweilige Anstieg oder Abfall der MHMS beobachtet werden konnte.

Dieser Versuch wurde auf den Menschen übertragen, indem der Versuchsperson, um den Urin sauer zu machen, Ammonium-Chlorid unter möglichst geringer Flüssigkeitszunahme verabreicht wurde; um den Urin basisch zu machen, wurde Gelusil-Lac verabreicht und möglichst nur und viel Milch zu trinken empfohlen. Die Versuchsperson wurde nun beauftragt, an je einem Tag je eines der Pharmaka einzunehmen, am darauffolgenden Tag das andere Pharmakon, möglichst am frühen Morgen. Bei basischem Urin sollte über die ganze Zeit (8-12 Uhr) das Wasser zurückgehalten, bei saurem Urin aber jede Stunde Wasser gelassen werden (8-12 Uhr).

So ergaben sich verschiedene Urine: einmal einen basischen mit langer Verweildauer in der Blase, auf der anderen Seite einen sauren mit kurzer Verweildauer. Auf diese Weise hätte man gute Unterschiede herausarbeiten können, wenn die Verweildauer und das Milieu auf den MHMS-Abbau irgendwelche Wirkung ausübte. Wichtig war bei dem ganzen Versuch, dass die Versuchsperson über den ganzen Morgen sich weder einer physischen noch einer psychischen Belastung unterzog, sondern ruhig im Bett

liegen blieb; wichtig war das deshalb, weil die Katecholaminausscheidung gesunder Individuen in Abhängigkeit von der Betätigung starken physiologischen Schwankungen unterliegt, (KNAUF, VERBEEK 1962), und somit unkontrollierbare Adrenalin- und Noradrenalinausschüttungen zustande gekommen wären, (ELMADJIAN, HOPE, LAMSON 1957).

Unter solchen Ruhebedingungen war es möglich, den üblichen Tagesgang der Körpertemperatur des Menschen zu bekommen (MENZEL 1962). Man spricht hierbei mit Hildebrand (nach Menzel) von einer Aufheizungstendenz des Menschen am Vormittag und einer Entwärmungstendenz am Nachmittag.

Ebenfalls wie im Modellversuch hatten wir bei der sauren Serie stündlich anfallende Urine (bei der basischen Serie einen Urin mit einer Verweildauer von 4 Stunden in der Blase), die nun photometrisch zu messen waren.

Bestimmungsmethoden der Katecholamine:

Um nun die Rolle der Katecholamine in Krankheitsstadien auszuwerten, ist es wichtig, die Produktion und Aktivierung dieser Hormone messen zu können. Da die MHMS-Ausscheidung in relativ festem Verhältnis zu ihrer Produktion steht (KNAUF, VERBEEK 1962), ist es möglich, durch die Bestimmung der MHMS aus dem Harn ein gutes Bild über die Freisetzung der Stoffe in den Nebennieren und sympathischen Nerven zu

bekommen. Für den Nachweis der beiden Sympatho-Hormone im Blut und Urin gibt es eine Vielzahl von Möglichkeiten, die sich von drei Bestimmungsmethoden herleiten lassen:

1. biologische,
2. chemische und chromatographische Trennungsmethoden.

Die Vorgänge sind bei allen drei Methoden zunächst dieselben, dass nämlich:

1. die gesuchten Abbauprodukte von einem grösseren Ausgangsvolumen in einem kleineren Untersuchungsvolumen angereichert werden müssen und
2. die für die Trennung hinderlichen Substanzen in einem bestimmten Aufbereitungsverfahren eliminiert werden müssen.

Die meisten Methoden basieren auf der Absorption der Katecholamine durch Aluminosilicate, Elution mit Säure und Bildung einer fluoreszierenden Verbindung. (WEIL-MALHERBE und Mitarbeiter 1953) (v. FULER und Mitarbeiter 1955). Der Anteil in Prozenten der Katecholamine, die unverändert oder in konjugierter Form ausgeschieden werden, ist klein, sodass bessere Bestimmungswerte der Gesamtproduktion dieser Neurohormone von der Messung des hauptsächlichsten metabolischen Produktes, der MHMS, abhängen. Neueste Untersuchungen von DIRSCHERL und Mitarbeiter (1964) ergaben, dass nicht MHMS das Endprodukt des Adrenalin-

und Noradrenalin-Abbaues ist, " wenn man von der in geringem Umfang auftretenden Bildung eines Konjugates mit Glycin absieht " (Dirscherl W. und Thomas 1963, Zitat nach Dirscherl Mf. 1964), sondern Vanillinsäure. Sogar in Leberhomogenaten wird die Vanillinsäure nicht weiter abgebaut und wird auch in der menschlichen Leber als Endabbauprodukt von Adrenalin und Noradrenalin angesehen. Die Vanillin-Mandelsäure wurde zunächst durch Entziehung aus dem Urin, Papierchromatographie, und Farbenentwicklung mit diazotisiertem P-Nitroanilin bestimmt (ARMSTRONG und Mitarbeiter 1957). Eine Anzahl anderer Methoden basiert auf Abtrennung der MHMS durch Ionenaustausch-Chromatographie (LA BROUSSE und Mitarbeiter 1961), und Umwandlung zu Vanillin, (Hochspannungs-Elektrophorese, nach STUDNITZ und Mitarbeiter 1959) und Dünnschicht-Chromatographie. Alle diese Möglichkeiten haben Werte für VMS-Ausscheidung ergeben, die im allgemeinen mit den Bestimmungen von Armstrong, M C. MILLAN und SHAW (1957) übereinstimmen.

Die eigene Bestimmung der Metaboliten der Katecholamine

Die meisten Untersuchungen über die Metabolitenbestimmung wurden mit Hilfe der Papierchromatographie vorgenommen. Aber es war dringend notwendig, schnellere und genauere Methoden als die der Papierchromatographie zu entwickeln. Nun gibt es eine ganze Reihe

von Bestimmungsmethoden der Metaboliten aus dem Urin, allein 12 Methoden für die Bestimmung der MHMS. Es gibt biochemische, kalorimetrische und, als wesentlich empfindlichere Methode, die fluorometrische (KNAUF, VERBEEK 1962). Wir haben für unsere Zwecke der Bestimmung der MHMS die chromatographische Trennungsmethode in Form der eindimensionalen Dünnschicht - Chromatographie (DC) benutzt, wie sich auch Schmidt und Henning (1963) zur Trennung der Metaboliten des Katecholaminstoffwechsels angewendet haben. Sie scheint einige Vorteile zu bringen; Ähnlich wie bei der Säulenchromatographie wird auch hier Kieselgel G " Merck" benutzt. Die Trennung der Substanzen braucht dann nur einen Bruchteil der Zeit, wie sie für säulen- und papierchromatographie Verfahren benötigt wird.

Im einzelnen geht man wie folgt vor: Zunächst ist es wichtig, den zu untersuchenden, angesäuerten Urin von Schleimstoffen zu reinigen. Hierzu werden die bereits abgefüllten 20 ml Urin mit kristallisiertem Koshlsalz versetzt und bei Zimmertemperatur geschüttelt, bis kein NACL mehr in Lösung geht, also eine gesättigte Lösung zustandegekommen ist.

Der zweite Schritt beinhaltet die Extraktion der Katecholaminfraktionen aus dem Harn. Und zwar werden zu diesem Zweck jene schon mit NACL gesättigten 20 ml Urin dreimal mit je 20 ml Essigsäureaethylester versetzt und im ganzen etwa 10 Minuten geschüttelt. Im Einzelnen geht das

folgendermassen vor sich:

Die 20 ml Urin werden mit 20 ml E-AE-E (Essigsäureaethylester) im Schütteltrichter etwa 3-4 Minuten geschüttelt; beim ruhigen Stehenlassen schichtet sich der Urin deutlich unter den E-AE-E; der Urin kann somit gut vom E-AE-E getrennt werden. Der abgetrennte Urin wird erneut mit 20 ml E-AE-E 5 Minuten geschüttelt. Dieser Vorgang wird nun noch einmal wiederholt, die E-AE-E- Extrakte vereinigt. Hierauf werden die Ester-Extrakte mit Natrium sulfuricum siccum getrocknet und bis zur Trockne eingedampft. Hierzu diente ein Rotationsverdampfer (Rotavapor Firma Büchi)

Für die weitere Gewinnung der einzelnen Katecholamin-Fraktion ist die Methode der Dünnschichtchromatographie angezeigt. Zunächst hier einige Anmerkungen zur Technik:

Es wurde die DESAGA-Grundausrüstung verwendet mit Glasplatten von der Grösse 20 x 20 cm. Diese Platten werden auf einer eigens für diesen Zweck von der Firma hergestellten Plastikleiste, mit einem Streichapparat mit Kieselgel beschickt. Die Dicke der Schicht beträgt 0,1 mm (Kieselgel G nach Stahl für Dünnschichtchromatographie " Merck ").

Im einzelnen geht man folgendermassen vor:

Die Glasplatten wurden nach guter Reinigung mit Wasser, noch einmal mit Alkohol abgerieben, um mögliche Fettspuren zu vermeiden. Für den Kieselgelbrei nahm man einen der Grösse nach geeigneten Mörser, in dem man 30 g Kieselgel mit 60 ml Wasser (aqua dest.) gut verrühren konnte, jedoch darf nicht zu lange gerührt werden, weil das Gel sehr hygroscopisch ist und dann schnell fest wird. Man giesst also den ziemlich flüssigen Gelbrei in den Streichapparat, der auf der mit den Glasplatten belegten Plastikleiste aufsitzt, und zieht ihn, indem die Leiste als Schiene dient, langsam und gleichmässig über die Glasplatten hinweg.

Nachdem das Gel etwa 3 Minuten lang auf der Glasplatte angezogen hat, reinigt man die Aussenränder der Platten (links und rechts etwa 2 cm vom Rand), schiebt sie in ein dazugehöriges Leichtmetalltrockengestell für 10 DC-Platten (20 x 20 cm), bringt sie in einen Trockenschrank zum Trocknen (Dauer etwa eine halbe Stunde bei 120°C), und lässt in einem Exsiccator über P_2O_5 abkühlen.

Nun wird der in den Rundkolben eingedampfte (K)atecholamin-Extrakt mit 1 ml E-AE-E gelöst und mit einer Pipette von 10 mm³ auf die getrockneten Gelplatten

aufgetragen. Die Startlinie des aufgetragenen Extraktes muss mindestens 2 cm vom unteren Plattenrand entfernt sein, weil sonst der aufgetragene Extrakt in die Lauf-
flüssigkeit eintaucht.

Aufgetragen werden genau 50 mm^3 des K.-Extraktes, also 5-mal der Inhalt der Pipette (10 mm^3). Da die Platte eine Seitenlänge von 20 cm hat, erfolgt unser Auftrag im Bereich von 5 bis 15 cm, während auf beiden Seiten das Depot der gesuchten K.-Fraktion aus einer Standard-Lösung aufgetragen wird. (sogenanntes Leitchromatogramm).

Vier so beschickte Kiesel-Gel-Platten werden in eine Glaskammer mit aufgeschliffenem Glasdeckel gestellt, und zwar so, dass sie nicht dicht aneinander liegen; also zwei an die beiden gegenüberliegenden Wände der Glaskammer und zwei in ein Metallgestell in die Mitte der Kammer. Zuvor jedoch war die Kammer mit einem Lösungs- oder Laufmittel beschickt worden. Zu diesem Zweck haben wir zusätzlich die Wände der Kammer mit dünnem Fliesspapier ausgekleidet, zur Verbesserung der Kammersättigung.

Als Lösungsmittel kamen für uns zwei Möglichkeiten in Frage: ein basisches Gemisch aus:

Ammoniak	20 ml
Isopropanol	30 ml
Essigsäureaethylester	45 ml
(SCHMID, E., L. ZICHA, J. KRAUTHEIM und J. BLUMENBERG 1962)	

und ein saures Gemisch aus:

Chloroform	75 ml
Methanol	20 ml
Eisessig	5 ml

wobei sich jedoch deutliche Unterschiede ergaben. Das basische Gemisch war durch seinen ammoniakalischen Teil ausserordentlich flüchtig, namentlich in der heissen Jahreszeit, wodurch trotz langer Laufzeit nur eine unvollständige Trennung der Katecholamin-Metaboliten erreicht werden konnte. Das saure Gemisch als Laufmittel hatte demgegenüber den Vorteil einer kurzen Laufzeit (3/4 Std.gegenüber 2 Std.mit dem basischen Gemisch), und einer guten Trennung, weshalb es bevorzugt Verwendung fand. Während dieser Zeit war es wichtig, die Kammern eben zu plazieren, keiner Erschütterung und keiner Temperaturschwankung auszusetzen. Es hat sich als günstig erwiesen, die Chromatographie-Behälter in einer Kiste oder in einem Schrank während der Laufzeit stehen zu lassen.

Nach etwa 3/4 Stunden wurden die Platten der Kammer entnommen, der Mittelteil der Platten, auf dem sich die zu untersuchende Probe getrennt hatte, abgedeckt und die Leitchromatogramme mit alkoholischem Dichlorchinonchlorimid - Reagenz besprüht.Hierauf wurden die Platten wieder in eine solche Kammer gestellt, deren Boden mit konzentrierter Ammoniak-Lösung bedeckt war(25%ig),bis sich das Leit-

chromatogramm anfärbte. Es ergaben sich für die MHMS zwei Punkte im Durchmesser von etwa 2 cm in gleicher Höhe auf den Randbezirken der Gelplatte (Leitchromatogramm). Diese beiden hellgrauen Farbflecken gaben die Steighöhe und den Standort der MHMS auf dem Leitchromatogramm an. Sie hatten etwa die gleiche Höhe. An beide obere und beide untere Ränder dieser Flecken wurde ein Lineal angelegt und mit einem spitzen Griffel zwei Verbindungslinien auf die Kieselgelplatten graviert.

In diesem nun abgegrenzten Zwischenfeld war der gesuchte Vanillinmandelsäure-Anteil an Kieselgel fixiert. Mit einem Schabinstrument wurde der Gel-Staub aus dem Zwischenfeld gekratzt und zur Extraktion mit dem darin fixierten Vanillinmandelsäure-Anteil in 4 ml Methanol aufgeschlämmt.

Diese Methanol-MHMS-Lösung wurde durch Zentrifugieren bei 1600 r/min. 15 Minuten vom Kieselgelstaub getrennt. Ebenso konnte das Flüssigkeitsgemisch durch Abkippen gut vom Gel-Bodenbelag getrennt werden. Hierauf wurde das Methanol-MHMS-Gemisch zur photometrischen Messung mit 1/2 ml Diazo-Reagenz (10 ml Sulfanilsäure-Lösung 5%ig, 0,25 ml Natriumnitrit-Lösung 1%ig) und 2 Tropfen konzentriertem Ammoniak versetzt. Die Messung wurde nach genau 8 Minuten mit dem Photometer "Eppendorf" vorgenommen, bei einer Wellenlänge von 546μ , die MHMS-Werte einer vorher angelegten Eichkurve entnommen.

Ergebnisse:

Im Einzelnen seien hier die Ergebnisse widergegeben, wie sie aus diesen Versuchen gewonnen wurden. Die photometrische Extinktion ist umgerechnet in Gamma-werte MHMS. Begonnen wird mit der Aufzeichnung der Modellversuche, indem immer der Gammagehalt an MHMS von diesen Urinen zunächst vom Ausgangspunkt des Versuches, dann nach 2 Std. und nach 4 Stunden miteinander verglichen wird. Es ist nicht wesentlich, die Gesamtmenge MHMS des Blaseninhaltes zu berechnen, weil die Einheit g/ccm (=Konzentration) genügt, um einen Anstieg oder Abfall der Substanz ersichtlich zu machen. Parallel zu den Ergebnissen aus dem angesäuerten Urin werden die Ergebnisse mit dem basischen Urin angegeben, um in dieser Richtung Vergleiche ziehen zu können.

Die hier angegebenen Ergebnisse der Modellversuche sind in Doppelbestimmungen erarbeitet worden.

Angesäuertes Urin: pH 4-6

<u>Laufende Nr.</u>	<u>0 Std.</u>	<u>nach 2 Std.</u>	<u>nach 4 Std.</u>	<u>γ VMS/ccm</u>
1	0,68	0,60	0,28	"
2	0,47	0,47	0,43	"
3	0,25	0,28	0,18	"
4	0,28	0,16	0,14	"
5	0,30	0,28	0,11	"
6	0,28	0,14	0,16	"
7	0,28	0,25	0,31	"

Angesäuerter Urin: pH 4 - 6

<u>Laufende Nr.</u>	<u>0 Std.</u>	<u>nach 2 Std.</u>	<u>nach 4 Std.</u>	<u>pVMS/ccm</u>
1	0,68	0,60	0,28	"
2	0,47	0,47	0,43	"
3	0,25	0,28	0,18	"
4	0,28	0,16	0,14	"
5	0,30	0,28	0,11	2
6	0,28	0,14	0,16	"
7	0,28	0,25	0,31	"
8	0,22	0,18	0,25	"
9	0,22	0,22	0,14	"
10	0,22	0,22	0,08	"
11	0,18	0,25	0,14	"
12	0,28	0,28	0,25	"
13	0,18	0,11	0,14	"
14	0,08	0,08	0,14	"
15	0,22	0,25	0,22	"

Basischer Urin: pH 7,0 - 7,5

Laufende Nr.	0 Std.	nach 2 Std.	nach 4 Std.	/VMS/ccm
1	0,28	0,28	0,22	"
2	0,28	0,28	0,28	"
3	0,28	0,16	0,14	"
4	0,18	0,16	0,28	"
5	0,28 ^a	0,16	0,31	"
6	0,22	0,14	0,14	"
7	0,22	0,14	0,18	"
8	0,18	0,03	0,18	"
9	0,16	0,25	0,40	"
10	0,14	0,35	0,22	"
11	0,43	0,31	0,31	"
12	0,35	0,35	0,31	"
13	0,30	0,18	0,30	"
14	0,30	0,14	0,11	"
15	0,18	0,16	0,22	"

Die nun folgenden Aufzeichnungen bringen die Versuchsergebnisse, die an einer Versuchsperson gewonnen wurden. Wie schon erwähnt, handelt es sich hier ebenfalls um angesäuerte und basisch gemachte Urine (der pH des sauren Urins schwankte zwischen 5,2 und 6,1; der des basischen Urins zwischen 6,9 und 7,3), wobei der basische Urin über vier Stunden in der Blase verweilte, der saure jede Stunde gelassen und gesammelt wurde.

Für die Untersuchungen wurden jedem einzelnen Sammelurin 20 ml entnommen.

Zeit TCS-Std.	Temperatur °C	Puls	Urin ml	p ^H	Vanillin-Mandelsäure		
					γ/ml	γ gesamt	γ/Min.
7-8	36,2	60	29	5,4	0,14	4,20	0,070
8-9	36,3	60	37	5,4	0,11	4,07	0,068
9-10	36,4	61	50	5,4	0,14	7,00	0,120
10-11	36,5	62	45	6,0	0,15	5,75	0,110
7-11	36,1	60					
	36,3	60					
	36,3	62					
	36,6	64	230	7,0	0,10	23,0	0,096
7-8	36,5	67	20	5,2	0,40	8,00	0,133
8-9	36,7	68	47	5,6	0,28	13,16	0,219
9-10	36,6	68	47	5,8	0,25	11,75	0,196
10-11	36,7	69	35	6,0	0,30	10,50	0,175
7-11	36,8	64					
	36,8	66					
	36,8	66					
	36,7	67	190	6,4	0,30	57,0	0,237
7-8	36,2	62	22	5,4	0,22	4,84	0,080
8-9	36,4	67	26	5,4	0,22	5,72	0,095
9-10	36,7	63	33	5,8	0,31	10,25	0,170
10-11	36,8	58	29	5,8	0,40	11,60	0,193

Zeit Std.	Temperatur °C	Puls	Urin ml	p ^H	Vanillin-Mandelsäure		
					g/ml	g/gesamt	g/Min.
7-11	36,3	62					
	36,3	61					
	36,6	61					
	36,6	62	142	6,8	0,16	22,72	0,095
7-8	36,2	62	55	5,6	0,11	6,05	0,100
8-9	36,4	65	36	5,6	0,11	3,60	0,060
9-10	36,7	66	20	5,8	0,18	5,46	0,090
10-11	36,7	65	39	6,0	0,14	3,96	0,066
7-11	36,3	63					
	36,5	63					
	36,6	65					
	36,6	66	110	7,2	0,16	18,40	0,077
7-8	36,4	64	21	6,2	0,11	2,31	0,040
8-9	36,6	66	40	5,6	0,08	3,20	0,053
9-10	36,6	68	56	5,4	0,07	3,92	0,065
10-11	36,6	71	86	5,4	0,18	15,48	0,260
7-11	36,1	60					
	36,5	61					
	36,5	60					
	36,7	64	230	7,0	0,06	13,80	0,064

Zeit Ste.	Temperatur °C	Puls	Urin ml	p ^H	Vanillin-Mandelsäure		
					g/ml	g/gesamt	g/Min.
7-8	36,3	58	30	5,4	0,03	0,90	0,015
8-9	36,3	62	23	5,4	0,14	3,22	0,050
9-10	36,3	62	38	5,4	0,14	5,32	0,090
10-11	36,4	58	85	5,6	0,08	6,80	0,113
7-11	36,3	60					
	36,3	63					
	36,5	66					
	36,6	62	118	7,0	0,03	3,54	0,015
7-8	36,1	62	14	5,8	0,03	0,42	0,007
8-9	36,1	63	12	5,6	0,03	0,36	0,006
9-10	36,4	64	18	5,4	0,16	2,88	0,048
10-11	36,6	63	20	5,6	0,14	2,80	0,047
7-11	36,6	60					
	36,6	60					
	36,8	61					
	36,7	63	80	7,0	0,06	4,8	0,080
7-11	36,2	62					
	36,3	64					
	36,3	63	123	6,2	0,31	38,13	0,16
	36,5	66					

Zeit Std.	Temperatur °C.	Puls	Urin ml	p ^H	Vanillin-Mandelsäure		
					γ/ml	γ/gesamt	γ/Min.
7-8	36,2	61	32	5,6	0,158	5,05	0,083
8-9	36,2	65	43	5,6	0,060	2,60	0,043
9-10	36,4	64	28	5,6	0,153	4,30	0,070
10-11	36,6	65	47	5,8	0,06	2,80	0,040
7-11	36,3	59					
	36,3	60					
	36,6	62					
	36,5	63	107	7,2	0,30	32,10	0,13
7-11	36,3	62					
	36,5	62					
	36,6	64	300	7,0	0,03	9,0	0,038
	36,6	65					

D I S K U S S I O N

Da die Besonderheit der Versuchsanordnung in der Anwendung eines Modellversuches und einer Versuchsreihe am Menschen liegt, war die Möglichkeit gegeben, die jeweiligen Messergebnisse der Aenderung des Vanillinmandelsäure-Anteils im Modellfall und bei der Versuchsperson miteinander zu vergleichen.

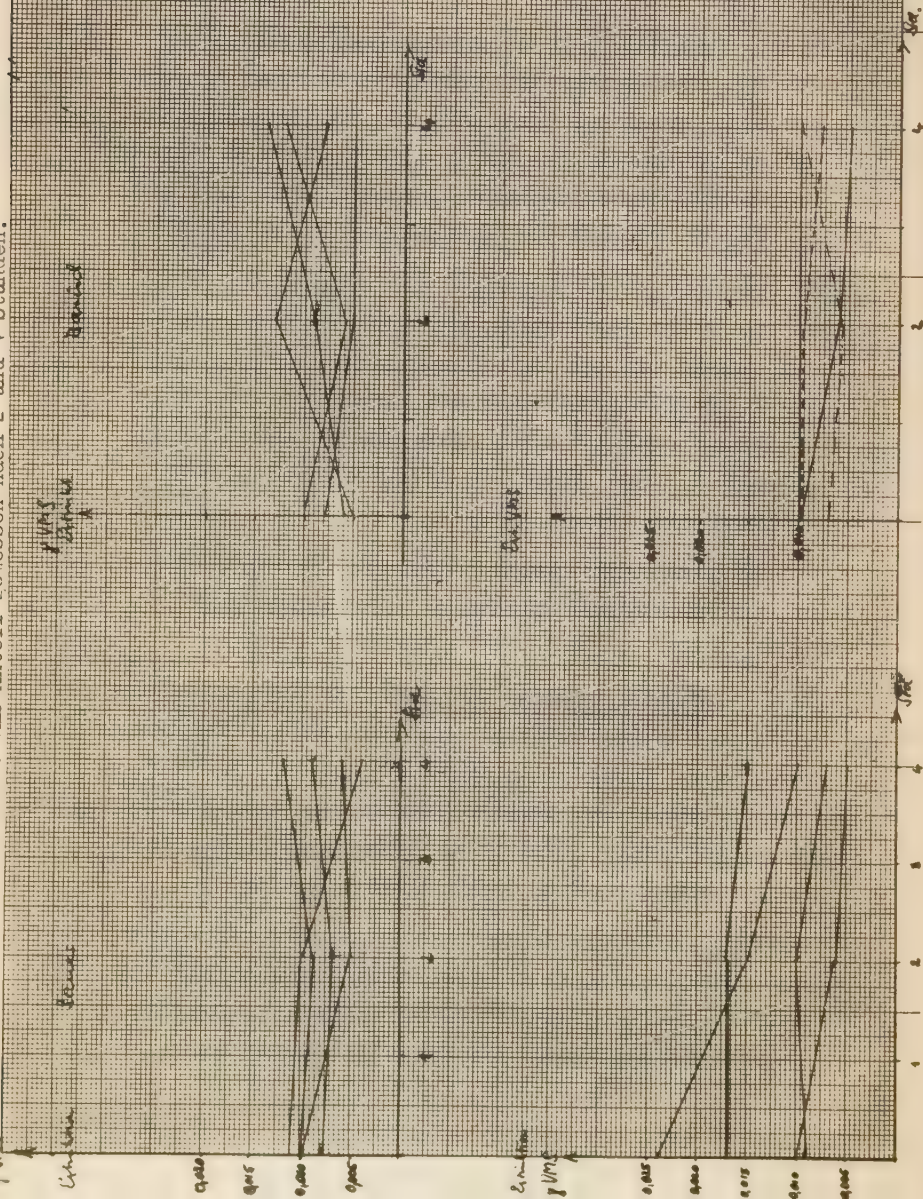
Es standen zwei Uringruppen zum Vergleich, je eine saure und eine basische Gruppe im Modellversuch sowie von der Versuchsperson. Die Möglichkeit, die Messergebnisse mit anderen dieser Art aus der diesbezüglichen Literatur zu vergleichen, schloss aus, da derartige Versuche noch nicht durchgeführt worden sind.

Der mittlere Bestimmungsfehler bei 42 Versuchen und Doppelbestimmungen an der Versuchsperson betrug $\pm 5\%$.

Was die Modellversuche betrifft, so ergab sich bei unterschiedlichem Milieu, das bei Versuchsbeginn in den Blasen hergestellt wurde, innerhalb der 4 Stunden, zu denen wir jeweils Proben zur Vanillinmandelsäurebestimmung entnahmen, keine wesentliche Aenderung des Gehaltes an Vanillinmandelsäure.

Nachfolgende graphische Darstellung II zeigt den recht uncharakteristischen Verlauf von Abfall oder Anstieg des Gehaltes an MHMS, wobei eine eindeutige Aenderung nicht festgestellt werden kann.

Schweineblasenversuche: VMJ-Anteil gemessen nach 2 und 4 Stunden.



Die durchschnittliche Vanillin-Mandelsäure-Ausscheidung der Versuchsperson über 4 Stunden ergab bei einem sauren Urin mit einem durchschnittlichen p^H von 5,61 22,410 μ VMS und bei einem basischen Urin mit einem durchschnittlichen p^H von knapp 7 22,249 μ VMS, womit man eine nahezu konstante Vanillinmandelsäure-Ausscheidung trotz unterschiedlichem Milieus angeben kann.

Nach TALAAT (1959) liegt die tägliche MHMS-Ausscheidung bei 25 bis 130 Mikrogramm/24 Stunden für normale Individuen, was unseren Fall mit der oberen Grenze noch einschliesst.

Unsere Angaben über VMS-Ausscheidung der Versuchsperson sind jedoch nur gültig über eine Zeitspanne von 4 Stunden, zu der bestimmten Zeit von morgens 7 bis mittags 11 Uhr.

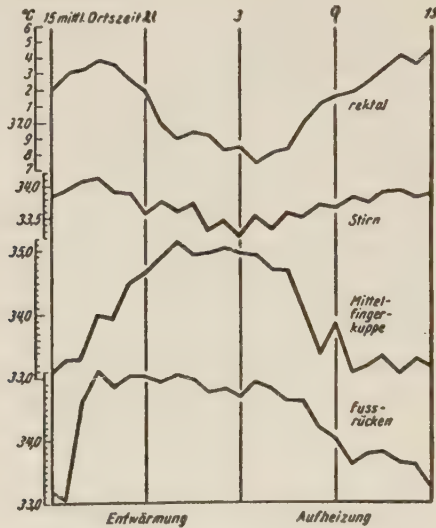
Vergleicht man die Schwankungen des Gehaltes an VMS beider Versuchsreihen, so halten sie sich etwa im gleichen Rahmen und liegen innerhalb der Grenzen des gefundenen Bestimmungsfehlers.

Hierbei ist nun zu berücksichtigen, dass der Tagesgang der Körpertemperatur, " die Kerntemperatur des Menschen" (MENZEL 1962) zum Nachmittag ihr Maximum erreicht; (Hildebrand G, Engelbertz P, Hildebrand-Evers, Guntrud

Z.klin. Med. 152 446 1954 nach

Menzel) man kann somit nach Hildebrand von einer Aufheizungstendenz des Organismus am Vormittag sprechen. Derartige Ergebnisse konnten wir auch verzeichnen, indem die Temperatur der Versuchsperson während dieser

4 Stunden am Vormittag im Durchschnitt $0,47 - 0,5^{\circ}\text{C}$ anstieg, was vom physiologischen Standpunkt auch nicht anders zu erwarten war.



Tag-Nacht-Schwankungen der Rectaltemperatur
Mittel aus 4 Versuchen. Gesunde Versuchs-
personen, Bettruhe, 1stündliche thermo-
elektrische Messung bei permanent liegendem
Thermofühler. Nach HILDEBRAND und ENGELBERTZ¹

Dass Wechselbeziehungen zwischen der Körpertemperatur und der Sekretion der Nebennieren bestehen, bestätigen FROMMEL und Mitarbeiter (1962) in ihren Versuchen unter hypo- und hyperthermischen Bedingungen.

In gleicher Weise berichten ANDERSON und Mitarbeiter (1963) von beträchtlichem Ansteigen der Katecholaminausscheidung

bei Aenderung der Temperatureinwirkung im rostralen Hypothalamusgebiet, das die führende Rolle in der Temperaturregelung spielt (PRECHT 1955). Jedenfalls hat eine Abtrennung oder Zerstörung dieses Gebietes aus dem Zentralnervensystem zu schwersten Störungen geführt (RANSON 1940).

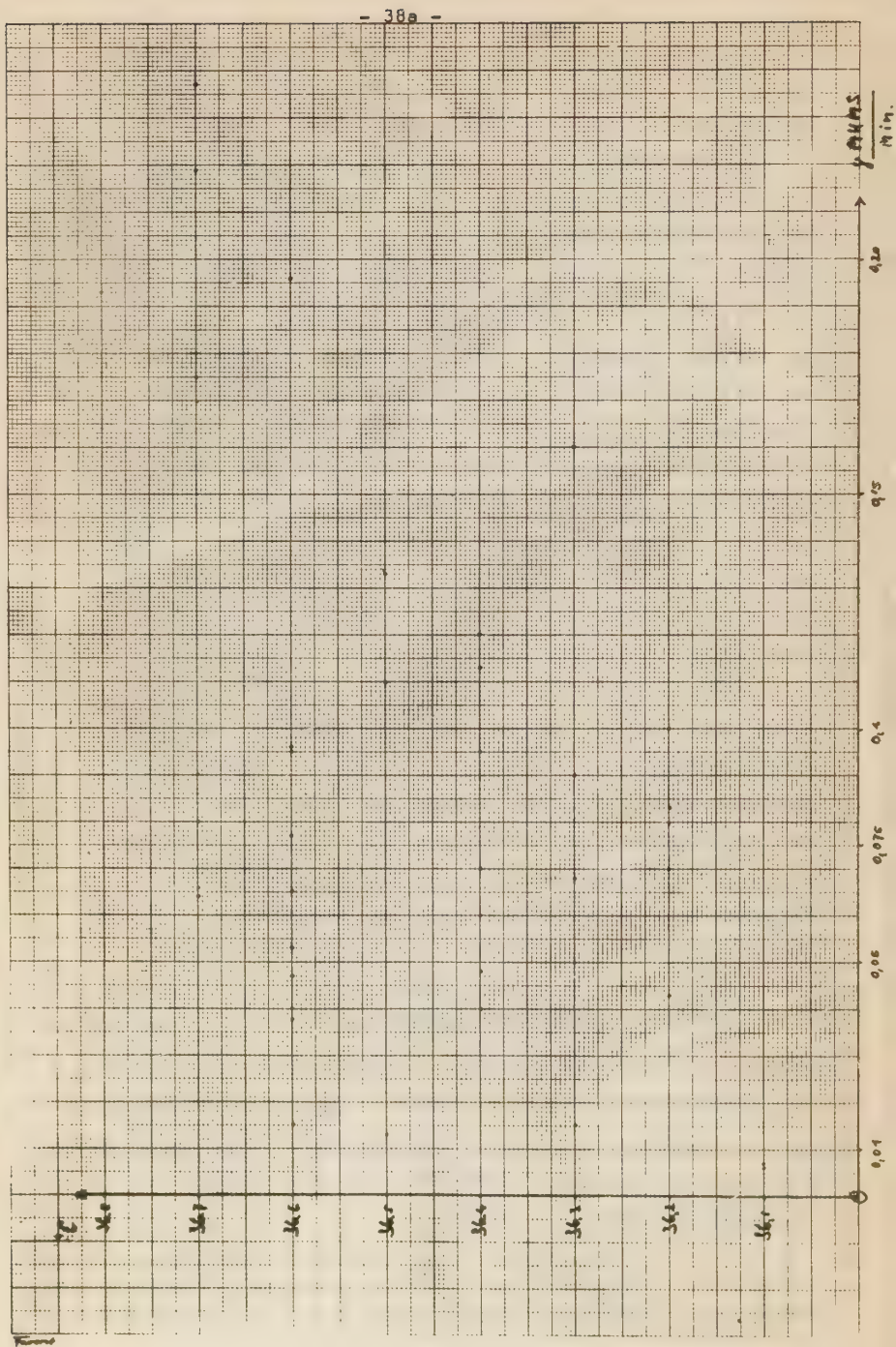
So war der Befund der MHMS-Ausscheidung verglichen mit den angegebenen Temperaturwerten, die bei der Versuchsperson stündlich rektal gemessen wurden, interessant. Und zwar ergaben sich von morgens 7¹¹ bis mittags 11 Uhr unter Ruhebedingungen im Liegen ansteigende Temperaturwerte von 36,1 bis 36,8 °C. Wir haben die MHMS-Ausscheidung mit dem ansteigenden Temperaturwerten verglichen und fanden mit dem Anstieg der Temperatur eine gleichfalls ansteigende MHMS-Ausscheidung, verdeutlicht durch folgende graphische Darstellungen, die auf der Abszisse die MHMS-Ausscheidung in μ /Min. und auf der Ordinate die Temperatur in °C trägt. Graphische Darstellung I zeigt die einzelnen MHMS-Werte in μ /Min., die zweite graphische Darstellung die durchschnittlichen MHMS-Werte im Urin bei steigender Temperatur.

Die Wahrscheinlichkeitsrechnung nach der Formel:

$$r = \frac{\sum x \cdot y - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sqrt{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}) (\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n})}}, \text{ wobei } x = \text{MHMS/Min}$$

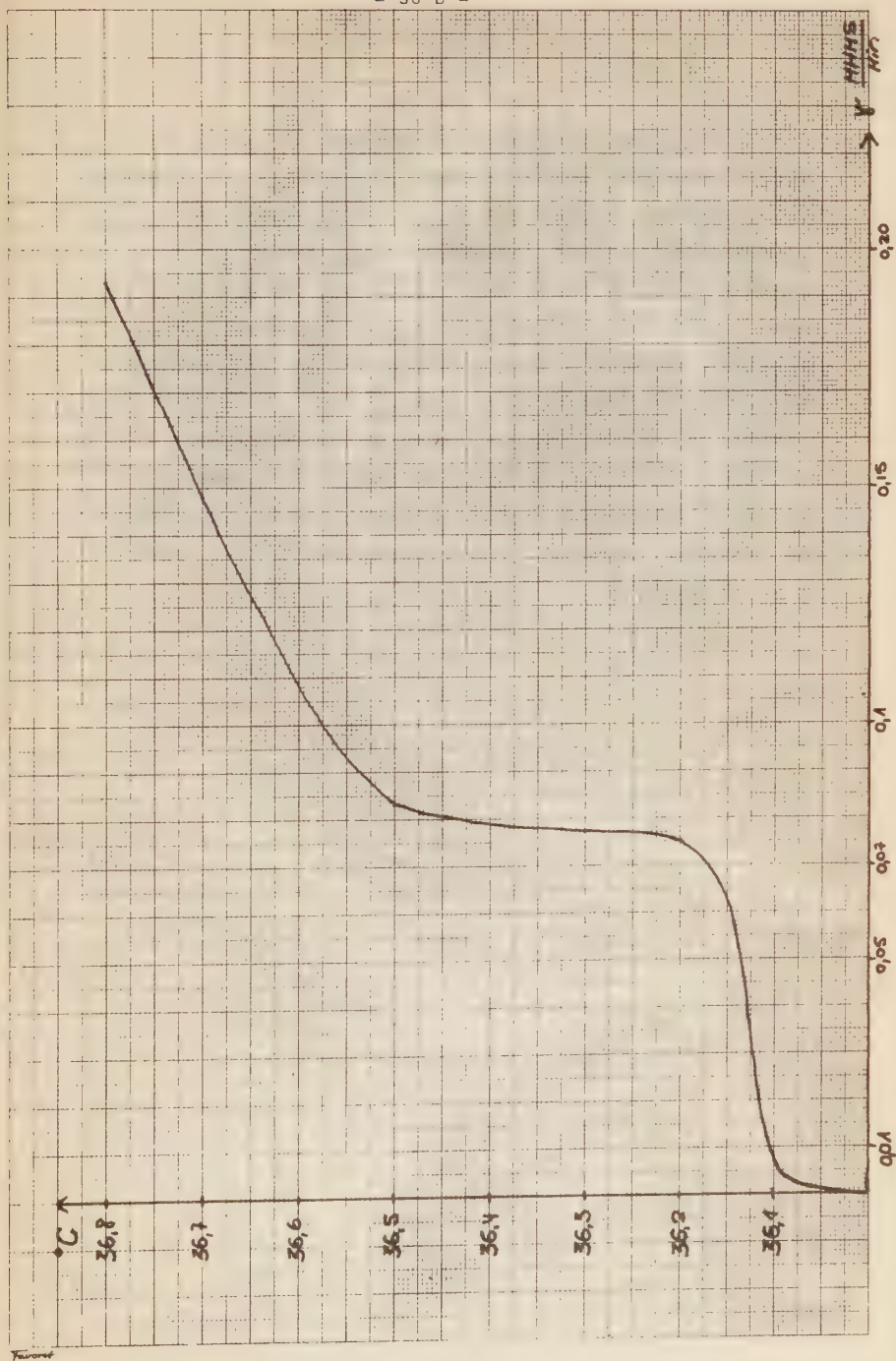
und $y = t$ °C ist, ergab für den Korelationseffizienten r einen Wert von 0,577 361, d.h. die direkten proportionalen Beziehungen zwischen MHMS-Ausscheidung in μ /Min. zur Temperatur ließen sich mit 99,9 - prozentiger Wahrscheinlichkeit sichern.

I Die einzelnen HHHS - Werte bei steigender Temperatur.



II. Durchschnittliche HHMS - Werte bei steigender Temperatur

- 38 b -



Da aber Menschen gleiche physiologische Reaktionen zeigen, nämlich, dass mit steigender Körpertemperatur im Verlauf des Tages auch die Vanillinmandelsäure-Ausscheidung zunimmt, kann man argumentieren, dass unabhängig vom p^H -Wert des Urins beim Menschen in einem Bereich von 4 Stunden in der Blase keine wesentliche Änderung hinsichtlich der Konzentration der Vanillinmandelsäure vorkommt.

Jedenfalls kann man sagen, dass man beim Sammeln des Urins für die Vanillinmandelsäure-Bestimmung auf den p^H -Wert des Urins innerhalb der Blase bei dem üblichen Intervall des Urinlassens keinen Wert zu legen braucht.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Eine Aenderung des Vanillinmandelsäuregehaltes in der menschlichen Harnblase kommt unter saurem oder basischem Milieu nicht zustande; weder bei den Modellversuchen, noch in den Versuchen an gesunden Versuchspersonen kam es zu signifikanten Abweichungen. Jedoch liess sich eine deutliche Beziehung zwischen Katecholaminausscheidung einerseits und der Temperaturerhöhung andererseits, die sich im Laufe des Tages einstellt, feststellen.

Herrn Professor Dr.H.Franke erlaube ich mir für die an der Medizinischen Poliklinik gebotene Arbeitsmöglichkeit ergebenst zu danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.P.Polzien für die Ueberlassung des Themas, für die Hilfe bei dessen Bearbeitung und für die Uebernahme des Referates.

Herrn Dr.L.Maiwald danke ich herzlich für die unermüdlich gezeigte Hilfsbereitschaft und Beratung bei der Abfassung der Arbeit.

Literatur Verzeichnis:

- Armstrong, M.D.,
A.Mc.Millan,
K.N.F.Shaw Biochem.u.biophys.Acta 25 442 .
Amsterdam 1957
- Armstrong, M.D.,
A.Mc.Millan,
K.N.F.Shaw Journ.biol.chem.226 255-66 Mai 1957
"The metabolism of 3,4,dihydroxy-
phenylalanin."
- Anderson, B.
Gale, C.C.
Höfkelt, B.
Ohga, A. Acta physiol.scnad. 61 182-91 Juni 1964
"Preoptic temperature and
catecholamin excretion."
- Axelrod, J. Science 126 400 Juli 1957
"O-Methylation of epinephrin and
other catechols in vitro and in vivo."
- Axelrod, J.,
I.K.Inscoe,
B.Witkop, Biochim.u.biophys.Acta 27 210 Jan.1958
"O-methylation, the principal path-
way for the metabolism of epinephrin
and norepinephrin in the rat."
- Axelrod, J., Pharm.Rev. 11(2) 1959
"The metabolism of the catecho-
lamines in vivo and in vitro."
- Bacq, Z.M. Journ.Pharmacol.u.exper.therap.62 37 1938
"Arterenol as possible sympathetic
hormone."
- Barger, G.
H.Dale Journ.Physiol. 41 19 1910/1911
Chem Structure a symp.-minet.
action of amines.
- Bauer, J. Dtsch.Arch.klin.Med.107 39 1912
"Zur Funktionsprüfung des vegeta-
tiven Nervensystems."
- Bettge, S. Z.f.Krslfisch.49 535-42 1960
"Untersuchung über den nachweis
der sympaticomimetischen Hormone
im Blut und Urin des Menschen."
- Bieck, P.
Wollheim, E.
Kuschke H.J. Dissertation Würzburg 1963
"Untersuchungen zur medikamentösen
Beeinflussung des Brenzkatechin-
haushaltes."
- Blaschko, H.,
D.Richter,
H.Schlossmann. Biochem.Journ. 31 2187-2196 1937
"Oxidation of Adrenalin and
other amines."
- Blaschko, H.
D.Richter
H.Schlossmann Journ.Physiol. 90 1-17 1937
"Inactivation of Adrenalin."
- Blaschko, H. Pharm.Rev. 4 415-453 1952
"Amine oxydase and amine metabolism."
- Blaschko, H. Pharm.Rev. 11(1) 307-316 1959
"Biosynthesis of Catecholamines-
The development of current con-
cepts of catecholamin-formation."

II

- | | | |
|--|--|--------------|
| Cannon, W.B.
J.E.Uridil. | Amer.J.Physiol. 58 353
"Studies on condition of activity
in endocrine glands; some effects
on denerved heart of stimulating
nerves of liver." | Dez. 1921 |
| Cannon, W.B. | Ergebn.Physiol. 27 380-406
"Die Nozfallsfunktion des sym-
pathico-adrenalen Systems." | 1928 |
| Cannon, W.B. | W.W.Norton u.Co. New York
"The wisdom of the body." | 1932 |
| Cannon, W.B.
A.Rosenblueth | Amer.J.Physiol. 104 557-574
"Studies on conditions of acti-
vity in endocrine organs;
Sympathin E and Sympathin I." | Juni 1933 |
| Carlsson, A.
M.Lindqvist,
T.Magnusson,
B.Waldeck. | Science 127 471
"On the presence of 3-hydroxy-
tyramin in brain." | 1957 |
| Carlsson, A. | Pharm.Rev. 11(2) 300-304
"Detection and assay of dopamin." | Juni 1959 |
| Cybulsky, N.
zit.nach Kuschke H.J. | Arch.ex.path.Pharmacol. 209 364-74
"Arch.für Kreislau fforschg. 36 104 | 1950
1961 |
| Dakin, H.D. | J.Physiol. 32 34/36
"Synthetical substances allied
to adrenalin." | 1905 |
| Dirscherl, W.
B.Brisse, | Acta endocrinol. 45 641-646
"Vanillinsäure als Endprodukt
des Abbaues von Adrenalin
und Noradrenalin." | 1964 |
| Elliot, T.R. | J.Physiol. 31, 401
"On the action of adrenalin." | 1904 |
| Elmadjian, F.
E.T.Lamson
R.Neri | J.clin.endocrin. 16 222
"Excretion of adrenalin and nor-
adrenalin in human subjects." | 1956 |
| Elmadjian, F.
J.M.Hope,
E.T.Lamson, | J.Clin.endocrin. 5 608
"Excretion of epinephrin and
norepinephrin in various emo-
tional states." | 1957 |
| Euler, U.S.v. | Acta physiol.scand. 12 73-97
"Specific sympathomimetic ergone
in adrenergic fibres (sympathin)
and its relations to adrenalin
and noradrenalin." | 1946 |
| Euler, U.S.v. | Pharmacol.Rev. 3 247-77
"Nature of adrenergic nerve
mediators." | Sept. 1951 |
| Euler, U.S.v.
S.Tellner | Acta physiol.scand. 22 161-67
"Excretion of noradrenalin, adre-
nalin and hydroxytyramin in urine." | 1951 |

III

- Euler, U.S.v.
S. Hellner, Acta physiol. scand. 26 183 1952
"Noradrenalin-excretion in
muscular work."
- Euler, U.S.v.
I. Floding Acta physiol. scand. 22 Suppl. 118 45 1955
"A fluorimetric micromethod for
differential estimation for adre-
nalin and noradrenalin."
- Euler, U.S. von
R. Luft Acta physiol. scand. 34 169 1955
"The urinary excretion of nor-
adrenaline and adrenaline in
healthy subjects during recombancy
and standing."
- Fürth, O. v. Z. physiolog. Chem. 29 105-23 Dez. 1899
"Zur Kenntnis der brenzkate-
chinähnlichen Substanzen der
Nebennieren."
- Frommel, E.,
Fleury, Med. exp. s. 254 Basel 1962
Ledebo, v.,
Beguín "On the differential mobilisation
of adrenalin and cortisone in
the progress of stress under hy-
pothemic conditions."
- Goodman, L.
Gilman, A. The pharmacolog. basis of thera-
peutics Mc. Millan Company New York 1941
- Greer, C. M. J. pharmacol. exper. ther. 62 189 Febr. 1938
J. O. Pinkston,
I. H. Braxter,
E. S. Brannon. "Norepinephrin as possible media-
tor in sympathetic division of auto-
nomic nervous system."
- Hamperl, H. Lehrbuch der Allg. Path. und Pathol.
Anatomie. Springer-Verlag 1960
- Heilmeyer, L. Lehrbuch der Inn. Med.
Springer-Verlag 1955
- Holtz, P. Arch. exp. path. pharm. 191 87-118 1938
R. Heise,
K. Lüttke "Fermentativer Abbau von l-Dioxy-
phenylalanin (Dopa) durch die
Niere."
- Holtz, P. Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol. 204 228 1944
K. Gredner,
G. Kroneberg "Über das sympathicomimetische
pressorische Prinzip des Harns."
- Holtz, P. Arch. exp. Path. u. Pharm. 209 364-74 1950
G. Kroneberg,
H. J. Schümann "Über das "Urosympathin" des Tier-
harnes."
- Holtz, P. Pharm. Rev. 11 (2) 317-329 1959
"-Biosynthesis- role of l-dopa-
decarboxylase in the biosynthesis
of catecholamines in nervous tis-
sue and adrenalin medulla."

IV

- Kirshner, N. Pharm.Rev. 11 (2) 350-57 1959
 "Biosynthesis of adrenalin and noradrenalin."
- Knauff, H.G., Klin.Wschr. 40 18-23 Jan. 1962
 G.Verbeek, "Fluorimetrische Bestimmung von
 G.Fruhmann Adrenalin und Noradrenalin im
 Harn.Ergebnisse bei Gesunden und
 Patienten im Hypertonus."
- Koelle, G.B. Physiol.Rev. 11 381-86 1959
 "Possible mechanismus for the termination of the physiological actions of catecholamines."
- Kopin, I.J. Science 131 1372-74 Mai 1960
 "Technique for the study of alternate metabolic pathways. Epinephrin metabolism in man."
- Kopin, I.J. J.biol.Chemistry 236 2109-13 Juli 1961
 J.Axelrod, "The metabolic fate of H 3-
 E.K.Gordon epinephrin and C 14 metanephrin
 in rat."
- Kraupp, O. Wiener klin.Wschr. 72 313-322 Mai 1960
 "Funktion und Biochemie der Katecholamine."
- Kuschinsky, G. Pharmacologie Georg Thieme-Verlag
 H.Lüllmann. Stuttgart 1964
- Kuschke, H.J. Arch.krslfsch. 36 104
 "Untersuchungen über den Erregungszustand des sympathischen Nervensystems und des Nebennierenmarkes bei kardiovaskulären Erkrankungen."
- La Brosse, E.H. Science 128 593 Sept.1958
 "O-methylation, the principal route of metabolism of epinephrin in man."
- La Brosse, E.H. Clin.Chim.Acta (Amsterdam) 6 79 Jan.1961
 V.K.Weise "Determination of urinary 3-methoxy-4-hydroxy mendelic acid in man."
 R.K.Mc.Donnald
- La Brosse, E.H. J.Klin.Invest. 40 253-60 Febr.1961
 J.Axelrod, "Metabolismus of 7-H3-epinephrin-d-
 I.J.Kopin, bitartrat in normal young men."
 S.S.Kety
- Loewi, O. Pflügers Arch.Physiol. 189 259 März 1921
 "Über humurale Übertragbarkeit der Herznervenerwirkung."
- Menzel, Menschliche Tag-Nacht-Rythmik und 1962
 Schichtarbeit S.21

- Moller, K.O. Pharmakologie Schwabe u. Co-Verlag; Stuttgart 1961
- Oliver, G. J. Physiol. 18, 230-279 Juli 1895
A.E. Schäfer, "The physiological effects of extracts of the suprarenal capsules."
- Philpot, F.J. J. pharmacol. u. exp. therap. 71 95 Jan. 1941
G. Cantoni, "Adrenalin destruction in liver."
- Precht, H. "Temperatur und Leben." Springer-Verlag 1955
-Temperaturbildung-
- Ranson, S.W. "The Hypothalamus." Baltimore 1940
- Richter, D. J. physiol. 98 361-374 Juli 1940
"Inactivation of Adrenalin in vivo in man."
- Schayer, R.W. J. biolog. chemistry 198 545 1952
R.L. Smily "Metabolism of epinephrin containing isotopic carbon."
E.H. Kaplan,
- Schmid, E. Med. exp. 7 8 1962
L. Zicha "Die Dünnschichtchromatographie."
J. Krauthelm,
J. Blumberg.
- Schmid, E. Klin. Wschr. 41 566 Juni 1963
N. Henning "Über den Nachweis der VMS in Harn."
- Schmid, E. Klin. Wschr. 42 344 Febr. 1964
Maythaler "Studies on the sympathico-adrenal reaction of automobildrivers by means of VMS-determination in urine."
- Schümann, H.J. Arch. exp. path. Pharm. 227 566 1956
"Determination of dopamine in sympathetic nerves and ganglia."
- Shore, P.A. Science Washington 126 1063 Aug. 1957
J.A.R. Mead, "On the physiologic significance of monoaminoxidase in brain."
R.G. Kuntzmann,
S. Spector und B. Brodie
- Sollmann, T. Manual of Pharmacologie Saunders Company London 1957
- Sundin, I. Acta med. scand. 161 Suppl. 336 1958
"The effects of body-posture on the urinary excretion of adrenalin and noradrenalin."
- Takamine und Aldrich zit. nach Goodman und Gilman New York 1961
- Talaat, M. J. of egypt. med. association. 42 302-308 1959
A.R. Fahmy,
A.W. El-Shihi "The urinary output of catecholamines under various physiological and pathological conditions."

VI

- | | | |
|----------------------------------|---|----------|
| Ullmann's Enzyklopädie
Band 8 | Ullmann's Enzyklopädie der techni-
schen Chemie -
Urban-Schwarzenberg Verlag Mchn-Bln | 1957 |
| Weil - Malherbe, H.
A.D. Bone | Lancet (London) 1 974-77
"The adrenergic amines in human
blood." | May 1953 |
| Weil - Malherbe, H.
A.D. | | |
| Windsor, C. Cutting | Handbook of Pharmacologie ACC New York | 196 |
| Zeisel, H.
H.J. Kuschke | Klin. Wschr. 37 1168
"Die katecholamine Adrenalin und
Noradrenalin im Harn des Kindes." | 1959 |
| Stahl, E. | Dünnschicht-Chromatographie
Bln.-Göttingen-Heidelberg Springer | 1962 |
| Studnitz, W. von,
A. Hanson. | Scand. J. clin. labor. invest. 11 101-05
"Determination of VMS in urine by
high-voltage paper-electrophoresis." | 1959 |

LEBENS LAUF

Als Sohn des Zahnarztes Dr. Hans H Ö F E R und seiner Frau Marianne wurde ich am 22.4.1935 in C O B U R G - Bayern geboren.

Nach 4-jährigem Volksschulbesuch an der Rückertschule in Coburg besuchte ich das humanistische Gymnasium - Casimirianum zu Coburg und absolvierte 1957 das Abitur.

Meine Studien der Zahnheilkunde begann ich an der Universität T Ü B I N G E N, wo ich bis zum Physikum blieb. Während der klinischen Semester studierte ich an den Universitäten W I E N , H A M B U R G und W Ü R Z B U R G . Im Sommer 1963 legte ich an der Universität W Ü R Z B U R G das zahnmedizinische Staatsexamen ab und war das anschliessende Jahr Assistent der chirurgischen Abteilung der Zahn- Mund- und Kiefer-Klinik in Würzburg. Seit Januar 1966 bin ich Assistent in einer zahnärztlichen Praxis in Luzern in der Schweiz.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Klaus Höfer.

